

---

# **VALIKOITUJEN LEPAAN RUUSUKVITTENIKLOONIEN MIKROLISÄYS**



Ammattikorkeakoulun opinnäytetyö

Puutarhatalouden koulutusohjelma

Lepaa, 29.4.2011

Ida Eerikäinen



Puutarhatalouden koulutusohjelma  
Lepaa

Työn nimi Valikoitujen Lepaan ruusukvittenikloonien mikrolisäys

Tekijä Ida Eerikäinen

Ohjaava opettaja Mona-Anitta Riihimäki

Hyväksytty \_\_\_\_\_.\_\_\_\_\_.20\_\_\_\_\_

Hyväksyjä

LEPAA

Puutarhatalouden koulutusohjelma

**Tekijä**

Ida Eerikäinen

**Vuosi** 2011

**Työn nimi**

Valikoitujen Lepaan ruusukvittenikloonien mikrolisäys

## TIIVISTELMÄ

Ruusukvittenin mikrolisäystä on tutkittu aiemminkin ja kirjallisuutta on saatavilla kohtuullisesti. Näiden lähteiden lisäksi opinnäytetyön pohjana oli Lepaan mikrolisäyslaboratorion ruusukvittenin mikrolisäyskokeilusta kertyneet tiedot sekä kahden kehitystehtävän tulokset. Työ liittyi myös HAMK Lepaan ja Helsingin yliopiston yhteistyönä toteutettavaan ruusukvitteni-hankkeeseen.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli kerätä tietoa japaninruusukvittenin (*Chaenomeles japonica*) mikrolisäyksen aloitusmenetelmistä. Tavoitteena oli tuottaa monistuva mikrolisäysviljelmä ja näin säilyttää Lepaan viljelmän parhaat siemenlisätyt yksilöt. Myös ruusukvittenin käyttömahdollisuuksiin perehdyttiin. Työ toteutettiin toimeksiantajan, mikrolisäyslaboratorio HAMK Lepaan tiloissa, syksyn 2010 ja kevään 2011 aikana.

Kokeen lisäysmateriaali kerättiin viitenä eri kertana Lepaan ruusukvitteniviljelmältä, kahdesta eri kloonista. Aloituksia tehtiin lepotilaisista silmuista ja hyödettyistä versoista. Ravintoalustoina tutkimuksessa oli kolme Murashige & Skoog (MS) -alustaa. Hormoneina käytettiin zeatiinia (ZEA) ja bentsyyliaminopuriinin (BAP) eri pitoisuuksia.

Tulosten mukaan ruusukvittenin mikrolisäys kannattaa aloittaa hyödettyistä versoista lepotilaisten silmujen sijaan. Kloonien välillä eroavaisuuksia havaittiin etenkin hyötymisessä. Muissa tutkimuksissa eri genotyyppien on todettu vaikuttavan mikrolisäykseen muutenkin, joten aiheetta olisi syytä tutkia lisää. Aloitusaloitusten väliset erot olivat melko pienet, mutta parhaaksi osoittautui kuitenkin MS  $\frac{3}{4}$  + ZEA 1 mg. Koska tässä työssä perehdyttiin vain aloitusmenetelmiin, olisi samankaltainen jatkotyö monistus- ja juurrutusvaiheista järkevää.

**Avainsanat** *Chaenomeles japonica*, japaninruusukvitteni, mikrolisäys

**Sivut**

24 s, + liitteet 5 s.

Lepaa  
Degree programme in Horticulture

---

<b>Author</b>	Ida Eerikäinen	<b>Year</b> 2011
<b>Subject of Bachelor's thesis</b>	Micropropagation of selected Japanese quince clones in Lepaa	

---

## ABSTRACT

The micropropagation of the Japanese quince has been researched before and also other literature is available. In addition to these sources the results of a trial done in the Lepaa micropropagation laboratory and two development assignments were the base of this work. This thesis was also related to a Japanese quince-project done in co-operation with HAMK Lepaa and the University of Helsinki.

The aim of this thesis was to gather information on micropropagation of the Japanese quince (*Chaenomeles japonica*). The goal was to produce a propagating microculture and to preserve the best seed propagated clones on the plantation in Lepaa. The work was conducted at the micropropagation laboratory HAMK Lepaa during the autumn of 2010 and the spring of 2011.

The propagation material was collected at five different times from the Japanese quince plantation in Lepaa, from two different clones. The propagation was started from dormant buds or forced twigs. The mediums for this experiment were three different Murashige & Skoog (MS) mediums. The hormones used were zeatin (ZEA) and different concentrations of benzyl amino purine (BAP).

According to the results the micropropagation of the Japanese quince should be started from the forced twigs instead of the dormant buds. Differences between clones were observed especially in forcing. In other studies the differences between genotypes have been noticed to have an effect on other states of micropropagation too, so this should be researched more. The differences between media were quite small, but the best was MS ¾ + ZEA 1 mg. Because this thesis covered only the first stage of micropropagation, it would be wise to do the same kind of research on proliferation and rooting too.

**Keywords** *Chaenomeles japonica*, Japanese quince, micropropagation

**Pages** 24 p + appendices 5 p.

## KÄSITTEITÄ

BA, BAP	Bentsyyliaminopuriini, sytokiniini, jonka tarkoituksena on edistää versojen kasvua.
Genotyyppi	Perimä. Genotyypiltään samanlaiset kasvit ovat toistensa klooneja.
Hyperhydraatio	Vanhentunut termi vitrifikaatio. Paisunut verso sisältää runsaasti vettä. Lehdet ovat pieniä, hentoja ja tummanvihreitä sekä usein epämuodostuneita.
Kanta	Yhteisistä vanhemmista jalostettu tai polveutuva populaatio.
MS	Murashigen & Skoogin kehittämä ravintoalusta.
NaOCl	Natriumhypokloriitti, steriloinnissa eri vahuuksina käytettävä aine.
Pektiini	Ravintokuitu, hydyttävä ominaisuus, jota hyödynnetään säilönnässä.
Spa-käsittely	Lisättävien kasvinosien huuhtominen juoksevan veden alla.
WPMR	Woody Plant Medium- ravintoalusta, joka on tarkoitettu etenkin puuvartisten kasvien mikrolisäämiseen.
ZEA	Zeatiini, sytokiniini, jonka tarkoituksena on edistää versojen kasvua.

# SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	1
2	JAPANINRUUSUKVITTENI .....	2
2.1	Kasvitieteellinen kuvaus .....	2
2.2	Kasvupaikkavaatimukset ja lannoitus .....	4
2.3	Leikkaus .....	4
2.4	Lisäys .....	5
2.5	Taudit ja tuholaiset .....	5
2.6	Käyttö viljely- ja koristekasvina .....	7
2.6.1	Prosessointi.....	8
2.6.2	Ruusukvittenin hyödyntämisestä tehtyjä tutkimuksia .....	9
3	AINEISTO JA MENETELMÄT .....	10
3.1	Mikrolisäyksen aloitusmateriaalit .....	10
3.2	Sterilointimenetelmät .....	10
3.2.1	Lepotilaiset silmut .....	11
3.2.2	Hyödettyistä silmuista puhjenneet ruohomaiset versot .....	11
3.3	Silmujen ja versojen preparointi .....	11
3.4	Aloitusalustat.....	12
4	TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU .....	13
4.1	Aloitusmateriaalin merkitys viljelmien kasvulle.....	13
4.2	Ravintoalustan merkitys viljelmien kasvulle .....	17
4.3	Jatkokasvatus.....	18
5	LOPPUPÄÄTELMÄT .....	20
	LÄHTEET .....	22
Liite 1	MS-alusta	
Liite 2	Yhteenveto aloituksista	
Liite 3	Kuvia ruusukvittenistä	

## 1 JOHDANTO

Kiinassa ja Japanissa ruusukvitteni (*Chaenomeles japonica*) on tunnettu koristekasvina jo yli 400 vuoden ajan. Eurooppaan kasvi saapui 1700-luvulla. (Joy & Martola 1990, 53.) Satokasvina ruusukvitteni on jäänyt melko vieraaksi, vaikka sen käytölle on pitkät perinteet Baltian maissa, Puolassa ja Ukrainassa (Kauppinen & Weckman 2002, 18–19). Suomessa japaninruusukvitteniä on kasvatettu lähinnä koeluontoisesti teollisuuden tarvekasvina ja jonkin verran koristetarkoituksiin (Alanko & Saario 1997, 111). Myöskään prosesoinnin raaka-aineena ruusukvittenin koko potentiaalia ei ole hyödynnetty. Runsaasti hedelmähappoja, aromeja, pektiiniä ja C-vitamiinia sisältävät hedelmät soveltuvat hyvin esimerkiksi marmeladien, hyytelöiden, karamellien, liköörin ja nektarin valmistukseen. (Alanko & Saario 1997, 111–113; Joy & Martola 1990, 56.) Panavaksen (1994) mukaan kasville on myös jonkin verran lääkinnällistä käyttöä.

Tällä hetkellä japaninruusukvittenistä ei ole saatavilla suomalaisia tai oloissamme laajemmin testattuja lajikkeita. Suurin osa myytävistä taimista tulee meille Keski-Euroopasta, minkä vuoksi lajin talvenkestävyys Suomessa on yleisesti ottaen melko heikkoa. (Joy & Martola 1990, 53.) Helsingin yliopisto on tarttunut tähän epäkohtaan ja etsinyt kestäviä kantoja, joista uusia lajikkeita voisi lähteä kehittämään. MTT:llä (Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus) on kokoelmissaan Helsingin yliopiston aikaisempien tutkimuksien perusteella valittuja klooneja. (Antonius 2006.)

Lajiketutkimus on tällä hetkellä siinä vaiheessa, että parhaita yksilöitä voidaan lähteä lisäämään ja niiden ominaisuuksia testaamaan laajemmassa mittakaavassa. Lajikeominaisuuksien säilyttämiseksi on lisäyksen oltava kasvullista, sillä vaikka japaninruusukvittenin siemenlisäys on tehokasta, on jälkeläistä ominaisuuksiltaan vaihtelevaa, mikä on osaltaan vähentänyt kasvin sadontuottoon tähtäävää viljelyä (Kauppinen & Weckman 2002, 18–19). Lisäystavaksi valittiin mikrolisäys, koska sen avulla on mahdollista tuottaa genotyyppiltään toistensa kaltaisia kasveja nopeasti ja tehokkaasti, kun oikeat menetelmät ovat tiedossa.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää japaninruusukvittenin mikrolisäyksen aloitusvaiheen kannalta paras aloitusajankohta ja -alusta, mahdolliset erot eri kloonien välillä sekä erot silmu- ja versoaloitusten välillä. Työn aikana pyrittiin tuottamaan monistuva mikrolisäysviljelmä ja näin säilyttämään Lepaan ruusukvitteniviljelmän parhaat siemenlisätyt yksilöt. Myös ruusukvitteniin kasvina, ja etenkin sen käyttömahdollisuuksiin, perehdyttiin.

## 2 JAPANINRUUSUKVITTENI

Ruusukvittenit kuuluvat ruusukasvien (*Rosaceae*) heimoon ja ruusukvittenien (*Chaenomeles*) sukuun. Toisinaan ryhmä on luokiteltu aitokvittenin (*Cydonia oblonga*) ohella *Cydonia*-sukuun ja joskus myös päärynän (*Pyrus*) sukuun kuuluvaksi. Suomessa kolmesta ruusukvitteni-suvun kasvista tavataan lähinnä koristearvonsa ja syötävien hedelmiensä takia viljeltävää japaninruusukvitteniä, jota yleisesti kutsutaan vain ruusukvitteniksi. Kahden muun lajin, kiinanruusukvittenin (*C. speciosa*) ja tarharuusukvittenin (*C. x superba*), talvenkestävyys on meidän olosuhteissamme hyvin epävarmaa. (Joy & Martola 1990, 53.)

Ruusukvitteni-suvun *Chaenomeles* nimi juontaa juurensa kreikan sanoihin *chaino*, avata ammolleen, haljeta, ja *melon*, omena. Hieman harhaanjohtava nimi johtuu japaninruusukvittenin nimeäjän, Carl Peter Thunbergin, virheellisestä käsityksestä, että hedelmä halkeaisi viiteen osaan ja siemenet varisisivat maahan. (Alanko, Hämet-Ahti, Palmén & Tigersted 1992, 232; Palmstierna 2000, 116.)

### 2.1 Kasvitieteellinen kuvaus



Kuva 1 Japaninruusukvitteni loppukesällä (Joy & Martola 1990, 55).

Ruusukvittenit ovat kesävihantia, usein piikikkäitä, yksikotisia pensaita (Kuva 1) (Alanko ym. 1992, 232). Kukinta ajoittuu lehtien puhkeamiseen touko-kesäkuussa ja kestää kolmisen viikkoa (Kauppinen & Weckman 2002). Lehdet ovat kierteisesti ja korvakkeellisia. Korvakkeet ovat usein suuria ja hammaslaitaisia. Lehtiruoti on lyhyt ja lapa ehyt. Ruusukvittenien kukat ovat kaksineuvoisia ja sijoittuneena yksittäin tai 2–6 (–10), tavallisesti punaisen kukan ryhmiin (Kuva 2). Verhiö, teriö ja emiö ovat viisi-lehtisiä. Teriö on 2,5–3,5 cm leveä, säteittäinen ja erilehtinen. Heteitä on 20–60. (Alanko ym. 1992, 232.)





Kuva 2 Ruusukvittenin kukinta (Mosquin 2007).

Ruusukvittenin hedelmät ovat 10–15 cm leveitä, paksun kukkapohjuksen ympäröimiä omenan kaltaisia tuppilokotia, jotka eivät Suomen oloissa ehdi useinkaan kypsyä kunnolla kylmänarkuutensa takia (Alanko ym. 1992, 232). Ne ovat raakoina vihreitä ja muuttuvat kypsyessään keltaisiksi ja aromaattisen tuoksuisiksi (Kuva 3). Hedelmät ovat kypsinäkin kivikovia, muodoltaan kuhmuraisia ja niiden pintaan muodostuu vahamainen kerros. (Alanko & Saario 1997, 113; Joy & Martola 1990, 56; Jensen 2006, 12.)



Kuva 3 Vasemmalla kypsä halkaistu ruusukvittenin hedelmä ja oikealla raaka hedelmä (Hayden 2008).

## 2.2 Kasvupaikkavaatimukset ja lannoitus

Ruusukvitteneistä vain japaninruusukvitteni on Suomessa talvenkestävä, ja sekin varmuudella vain Etelä-Suomessa vyöhykkeillä I–II (III). Talvenkestävyyttä edistää hyvän lumipeitteen muodostuminen pensaan suojaksi. Sopiva kasvupaikka on lisäksi aurinkoinen, kuivahko ja tuulensuojainen. (Alanko 1997, 49.) Kovin varjostettuna pensas ei kuki (Joy & Martola 1990, 53).

Kasvulle edullisin maaperä on läpäisevä, hiekka- tai sorapitoinen, kalkkiperäinen maa, jossa pH on 6 tai hiukan alle (Alanko 1997, 49; Alanko & Saario 1997, 111). Emäksisessä maassa ruusukvitteni voi kärsiä kloroosisista eli lehtien kellastumisesta tai vaalenemisesta (Kauppinen & Weckman 2002, 19). Myös seisova vesi on ruusukvittenille haitaksi (Joy & Martola 1990, 54). Luontaisilla kasvupaikoillaan japanilaista alkuperää oleva pensas kasvaa ravinteikkaissa, tuoreissa, nuorissa lehtimetsissä, lievästi merisessä ilmastossa (Alanko & Saario 1997, 111; Antonius 2006).

Melko hidaskasvuisena pensaana ruusukvitteni ei tarvitse paljon lannoitusta (Alanko & Saario 1997, 112). Etenkin liiallista typensaantia on vältettävä, sillä se aiheuttaa liian rehevää kasvua, jolloin kukat jäävät lehtien taakse piiloon ja myös talvenkestävyys kärsii (Joy & Martola 1990, 55). Satoisassa lannoitustarve kasvaa (Kauppinen & Weckman 2002, 19). Sopivia lannoitteita ruusukvittenille ovat esimerkiksi vähätyppiset yleislannoitteet, komposti ja puutuhka. Yleislannoitteita käytettäessä riittää istutuksen yhteydessä 20–30 g pensasta kohti. Myöhemminä vuosina annostusta hiukan nostetaan. (Alanko & Saario 1997, 112; Joy & Martola 1990, 55.) Pelto-tiljelyssä sopiva lannoite on esimerkiksi lanta, jota levitetään 20–40 tonnia hehtaarille. Riittävästä fosforin ja kaliumin saannista on tärkeää huolehtia. (Jensen 2006, 5.)

## 2.3 Leikkaus

Ruusukvitteni sietää hyvin leikkausta ja sopivin ajankohta sille on maaliskuussa. Nuoria pensaita ei yleensä tarvitse leikata, mutta vanhemmiten kasvustosta tulee ränsistyneen näköinen ja myös kukinta ja sadon tuotto kärsivät. (Alanko 1997, 49; Joy & Martola 1990, 55.) Koristepensaille hoitoleikkaukseksi riittää kuivien ja huonokuntoisten oksien poisto, sekä tasainen harventaminen. Hyötyviljelyssä pyritään pensaan rakenne pitämään sellaisena, että parhaiten satoa tuottavia kolmevuotiaita oksia olisi jatkuvasti mahdollisimman paljon. (Joy & Martola 1990, 55.)

Leikattaessa poistetaan ränsistyneiden oksien lisäksi pitkät, lumen yläpuolelle jäävät, sekä maata pitkin kasvavat oksat. Kasvamaan jätetään mieluiten lähes vaakasuorat, lievästi kaartuvat 15–45 cm maanpinnan yläpuolella olevat oksat. Juurivesat on myös hyvä poistaa leikkauksen yhteydessä. (Joy & Martola 1990, 55.) Pensasta leikattaessa tulee muistaa, että ruusukvitteni kukkii vain edellisen vuoden oksilla, joten voimakkaasti nuorennettaessa kukinta jää seuraavana kesänä väliin (Alanko 1997, 49).

## 2.4 Lisäys

Ruusukvitteneitä voidaan lisätä siemenistä, pistokkaista, varttamalla, taivukkailla, multaamalla ja mikrolisäämällä (Joy & Martola 1990, 54; Kauppinen & Weckman 2002, 19). Japaninruusukvitteni kasvattaa myös juurivesoja, joiden avulla se lisääntyy (Alanko ym. 1992, 232). Tavallisin lisäystapa on siemelisäys, koska pensaiden siementuotanto on runsasta ja siementen itävyys hyvä. Itääkseen siemenet vaativat 2–3 kuukauden kylmäkäsittelyn. (Joy & Martola 1990, 54.) Suurin ongelma siemenlisäyksessä on jälkeläistön monimuotoisuus (Alanko 1997, 49). Esimerkiksi okaisuutta esiintyy taimissa, vaikka siemenet olisi kerätty piikittömästä lajikkeesta (Alanko & Saario 1997, 113).

Pistokaslisäys onnistuu niin kesä- kuin talvipistokkaita, mutta ilman hormoneja on juurtuminen melko heikkoa (Jensen 2006, 2). Myös juuripistokkaita voidaan käyttää. Taivukaslisäyksessä saadaan taivukas juurtumaan vuodessa tai kahdessa. Multaamisessa juurien muodostukseen kuluu pari vuotta. (Joy & Martola 1990, 54–55.) Jos toiveena olisi tuottaa rungollinen pikkupuu, onnistuu varttaminen saksalaisten kokeiden mukaan parhaiten ruotsinpihlajan perusrunkoon (Jensen 2006, 3).

Kaikkien perinteisten kasvullisten lisäysmenetelmien, etenkin ammattiviljelyssä käytettyjen pistokkaiden, ongelmana on niiden hitaus ja tehottomuus. Tästä syystä mikrolisäysmenetelmien kehittäminen ja parantaminen ruusukvittenille kaupallisessa tarkoituksessa on järkevää ja välttämätöntä, kun halutaan tuottaa saman lajikkeen taimia tehokkaasti. (Panavas 1994.)

## 2.5 Taudit ja tuholaiset

Pääsääntöisesti ruusukvitteni on erittäin terve kasvi Suomen oloissa, eikä tarvitse mitään kasvinsuojelua, minkä takia se soveltuu hyvin myös luonnonmukaiseen viljelyyn. Myyrien ja jänisten aiheuttamat vioitukset talviaikaan saattavat joskus nousta ongelmaksi. (Alanko & Saario 1997, 112–113; Joy & Martola 1990, 56.) Yleensä vanhat pensaat ovat kuitenkin nopeita toipumaan vaurioista, ja ne kykenevät kukkimaan jo toisena myyrätuhon jälkeisenä vuotena (Joy & Martola 1990, 56).



Kuva 4 Verson kärkien taipuminen eli ”paimensauvan” ilmaantuminen on yksi tulipolteen aiheuttamista oireista (Kuvia tulipolte –taudin oireista 2010).



Ruusukvittenillä on yksi karanteenitauti, tulipolte (*Erwinia amylovora*), jota esiintyy myös muutamilla muilla *Rosaceae*-heimon kasveilla (Kuva 4). Nopeimmillaan tämä bakteeritauti tappaa isäntäkasvinsa puolessa vuodessa lakastuttamalla ja murtamalla versot. Levintä tapahtuu saastuneiden kasvien mukana. Tulipoltetta ei ole toistaiseksi tavattu Suomessa, mutta esiintymistä on tarkkailtava ja mahdollisista havainnoista on ilmoitettava kasvinsuojeluviranomaisille. (Evira 2006.)



Kuva 5 Punapahka (*Nectria cinnabarina*) (van der Molen n.d.).

Mikäli ruusukvitteni pääsee ränsistymään, iskee siihen helposti punapahka (*Nectria cinnabarina*), joka ilmenee pensaan nuorissa oksissa pieninä, oranssinpunaisina pilkkuina (Kuva 5). Tauti aiheuttaa oksien kitumista ja lopulta ne kuolevat. Paras punapahkan torjuntakeino on hyvät kasvuolosuhteet ja oikein ajoitettu leikkaus. Lisäksi ruusukvitteni on altis samantyyppisille taudeille ja tuholaisille kuin omena. (Antonius 2006.) Tällaisia on esimerkiksi punaisina pilkkuina hedelmässä ja lehtien pinnoilla näkyvä, omenalla varastotautia aiheuttava *Gloesporium*-sieni (Kuva 6) (Kauppinen & Weckman 2002, 19). Yleensä pilkut ovat kuitenkin vain kosmeettinen haitta (Jensen 2006, 9).



Kuva 6 Punaisia pilkkuja Lepaan viljelmältä kerätyissä ruusukvittenin hedelmissä (Avomaan ravintokasvituotannon kehitystehtävä-kurssi 2010). Syynä voi olla *Gloesporium*-sieni, mutta myös muita mahdollisia tällaisen oireen aiheuttajia on.

## 2.6 Käyttö viljely- ja koristekasvina

Kiinassa ja Japanissa ruusukvitteniä on viljelty koristekasvina jo yli 400 vuoden ajan. Eurooppassa kasviin tutustuttiin 1700-luvun lopulla, aluksi lähinnä kasvitieteellisten puutarhojen kautta. (Antonius 2006; Joy & Martola 1990, 53.) Satokasvina ruusukvitteni on aina jäänyt melko vieraaksi, vaikka sen käytölle on pitkät perinteet Baltian maissa, Puolassa ja Ukrainassa. 1990-luvun puolella välissä Latviassa oli vielä satoja hehtaareita viljelyssä, mutta siemenlisätyjen taimien vaihteleva hedelmien laatu on vähentänyt kasvin viljelyä. (Kauppinen & Weckman 2002, 18–19.)

Suomessa japaninruusukvittenin käyttö on ollut lähinnä koeluontoista viljelyä teollisuuden raaka-aineeksi tai koristetarkoituksiin (Alanko & Saario 1997, 111). Helsingin yliopiston kasvinjalostustieteen laitoksella on tehty työtä uusien, etenkin hedelmien tuottoon tähtäävien lajikkeiden kehittämiseksi (Alanko 1997, 49). Myös ulkomailla, varsinkin Latviassa, on tutkittu ruusukvittenin ominaisuuksia ja viljelyä. Ruisan ja Rubauskisin (2005) Latviassa tekemässä nelivuotisessa tutkimuksessa tarkkailtiin ruusukvittenien sadontuottokyvyn eroavaisuuksia eri genotyyppien välillä. Tuloksista havaittiin huomattavia eroja kasviyksilöiden välillä. Myös muiden ominaisuuksien, kuten kasvutavan ja pakkas- sekä tautikestävyyden osalta eroja oli nähtävissä, mikä osaltaan korostaa lajiketutkimuksen ja käyttö-tarkoitukseensa sopivien lajikkeiden kehittämisen tärkeyttä.

Koristepensaana japaninruusukvitteni sopii käytettäväksi kivikkopensaaksi, yksittäis- tai ryhmäpensaaksi sekä vapaasti kasvavaksi aidanteeksi (Alanko 1997, 49). Kannasta riippuen kasvin korkeus ja kasvutapa vaihtelee matalista pensaista jopa pieniin puihin (Jensen 2006, 1). Suomessa tavataan kuitenkin lähinnä matalia muotoja, sillä lumipeitteen yläpuolelle jäävät oksat paleltuvat helposti talvella (Alanko & Saario 1997, 112). Ryhmään istutettaessa tilaa pensaiden välille on hyvä jättää noin metri (Joy & Martola 1990, 54). Ruusukvitteni sietää huonosti nurmikkoheinien juuristokilpailua, joten sen kasvualustan on oltava nurmikosta erillään (Alanko 2003, 126). Myös rikkakasvit on syytä torjua istutuksilta, sillä pensas ei ole kilpailukykyinen niitä vastaan (Alanko ym. 1992, 232).

Hedelmien tuottoon tähtäävässä viljelyssä kukkien pölyttymisen ja hyvän sadon turvaamiseksi on valittava kaksi eri kantaa, koska ruusukvitteni on yleensä itsesteriili. Ongelmilta vältytään, jos kasvit on alun perin lisätty siemenistä, sillä niissä geneettistä muuntelua on tapahtunut. (Alanko & Saario 1997, 112.) Pensaat istutetaan vähintään 0,8–1 metrin taimivälillä. Rivivälinä Latviassa käytetään 2–2,5 metriä. (Jensen 2006, 4; Kauppinen & Weckman 2002.) Harjuistutuksilla ja mustaa katemuovia tai -kangasta käyttämällä nopeutetaan keväällä kasvuunlähtöä ja nostetaan maan lämpötilaa kasvukauden aikana (Alanko & Saario 1997, 112). Katteen avulla esitetään myös rikkakasvien kasvua, mikä on tärkeää etenkin nuorien taimien kohdalla (Antonius 2006).

Suurin osa myytävästä taimimateriaalista saapuu meille Keski-Euroopasta, sillä suomalaisia lajikkeita ei ole saatavilla (Alanko 2003, 126; Joy & Martola 1990, 53). Latviassa jalostustyötä on tehty jo pitkään. 'Cido' on Suomessakin kokeilussa ollut piikitön, suurihedelmäinen, sadontuottoon

tähtäävä lajike. (Alanko & Saario 1997, 111.) Hybridilajikkeita on myös jonkin verran markkinoilla, mutta niiden talvenkestävyys on heikkoa (Joy & Martola 1990, 53). Suomessa lajiketutkimusta on tehty jo 1980-luvulta lähtien Helsingin yliopiston toimesta ja parhaiksi valittuja klooneja on siirretty MTT:n kasvikokoelmiin (Antonius 2006). Ruotsissa ja Norjassa paikallisia lajikkeita ja kantoja, kuten norjalainen tummakukkainen 'Dömmesmoen', löytyy jo markkinoilta (Alanko 2003, 126).

### 2.6.1 Prosessointi

Ruusukvittenin sato määräytyy viljeltävän pensaan kannan ja iän mukaan. Yleensä sato on kuitenkin alle 10 kg pensasta kohden. Sato kannattaa poimia mahdollisimman myöhään, sillä hedelmien sitruunaa muistuttava aromi voimistuu niiden kypsyessä. Tavallisin sadonkorjuumenetelmä on käsinpoiminta. (Jensen 2006, 12–13; Joy & Martola 1990, 56.) Jos satoa ei käytä heti, voi sen varastoida. Tärkeintä on pitää ilmankosteus korkeana ja lämpötila matalana. Pakkasasteita hedelmät eivät kestä, sillä mentäessä jo vähän alle nollan asteen, hedelmien laatu kärsii. Pahinta laadun kannalta on lämpötilan vaihtelu nollan molemmin puolin. Latvialaisessa tutkimuksessa havaittiin, että hedelmiä voi varastoida jopa kolme kuukautta 2,5 °C:n lämpötilassa, kun taas ruotsalaisen tutkimuksen mukaan 1 °C:n lämpötilassa ja vähintään 85 % ilmankosteudessa hedelmät säilyivät kaksi kuukautta. (Jensen 2006, 13.)

Hedelmät eivät ole tuoreena syötäviä kovuutensa ja lievästi myrkyllisten siementensä takia, joten niiden prosessointi on välttämätöntä (Alanko & Saario 1997, 111–113). Hedelmät sisältävät runsaasti hedelmähappoja, aromeja, pektiiniä ja C-vitamiinia, minkä johdosta ne soveltuvat hyvin esimerkiksi marmeladien, hyytelöiden, karamellien, liköörin ja nektarin valmistukseen (Alanko & Saario 1997, 111–113; Joy & Martola 1990, 56). Myös jonkin verran lääkinällistä käyttöä on (Panavas 1994). Lepaan viinitila, jossa valmistetaan ruusukvittenilikööriä, kuuluu tällä hetkellä niihin harvoihin tahoihin, jotka Suomessa hyödyntävät ruusukvitteniä prosessoinnin tarvekasvina (Liite 3).

Lepaan viinitilan liköörimestari Jorma Virtanen (haastattelu 18.4.2011) tunnusti ruusukvitteniin ensimmäisen kerran 1970–1980-luvulla, jolloin Marli lisäsi Laponia-sarjaansa uuden tuotteen, ruusukvitteniliköörin. Tuolloin solmittiin myös joitakin viljelysopimuksia Varsinais-Suomen viljelijöiden kanssa. Tuotteen valmistus kuitenkin loppui 1990-luvulla, koska sen volyymi oli liian pieni suuren yrityksen mittakaavassa. Nykyään Lepaan viinitilalla valmistettava likööri eroaa jonkin verran Marlin tuotteesta. Menekiltään se on rinta rinnan vadelma- ja lakkaliköörin kanssa. Virtanen itse pitää ruusukvittenilikööriä juhlatilaisuuksiin sopivana sen hienostuneen ja poikkeavan makunsa vuoksi, johon ei tulisi sekoittaa mitään muuta. Uskoa tuotteen menestymiseen vähittäismyynnissä löytyy, mikäli viinitilatuotantoa koskevaan lakiin tulee muutosta. Virtasen mielestään ruusukvittenissä raaka-aineena on paljon käyttämätöntä potentiaalia, niin juoma-alalla kuin muutenkin teollisuudessa. Suurimpana syynä viljelyn vähyteen hän pitää raaka-aineen jatkojalostus-, tuotekehittely- ja markkinointityön vähyyttä.

## 2.6.2 Ruusukvittenin hyödyntämisestä tehtyjä tutkimuksia

1970-luvulta lähtien on ympäri Eurooppaa aloitettu useita projekteja, joiden tavoitteena on ollut ruusukvitteneiden ominaisuuksien tarkempi kartoittaminen ja hyödyntäminen (Antonius 2006). Ruotsissa on tehty tutkimusta ihmisten suhtautumisesta erilaisiin potentiaalisiksi arvioituihin ruusukvitteni-tuotteisiin. Testattavina olivat jäätelö, limonadi, hillo, rahka ja jogurtti. Pidetyin tuote oli jäätelö ja seuraavaksi pidetyimpiä limonadi ja rahka. Kaiken kaikkiaan kuluttajien suhtautuminen ruusukvittenin makuun oli hyvin positiivista. (Göransson & Rumpunen 2003.)

Toisessa tutkimuksessa perehdyttiin potentiaalisiin ruusukvitteniä hyödyntäviin tuotteisiin, jonka tuotoksista maistatus-tutkimuksen tuotteetkin valittiin. Edellä mainittujen kättötapojen lisäksi hedelmien sisältämä pektiini todettiin vaalean leivän leivonnassa käyttökelpoiseksi. Leivän laatu parani ja positiivista vaikutusta oli myös sisuksen kovuuteen ja elastisuuteen. 0,5 %:n osuuden pektiiniä kokonaisjauhomäärässä todettiin lisäävän leivän kokoa 7 %. (Gröön, Gustafsson, Göransson, Hellin, Jordan, Laencina, Ros, Vila & Åkesson 2003.) Ruusukvitteniä voidaan pitää mielenkiintoisena kuitukasvina. Hedelmien sisältämä pektiini sijaitsee pääasiassa niiden lihassa, joten kasvinjalostuksessa tulisi valita genotyyppejä, joiden hedelmissä on paljon lihaa ja vähän siemeniä. (Bratish, Garkava, Gustafsson, Gröön, Hellin, Jordan, Kaufmane, Kauppinen, Kviklys, Laencina, Norin, Nybom, Ross, Ruisa, Rumpunen, Stanys, Thibault, Thomas, Tigerstedt, Trajkovski & Åkesson 2000, 347.)

Rumpunen (2003) on tehnyt tutkimusta myös japaninruusukvittenin viljelyn kannattavuudesta Ruotsissa. Tuloksista käy ilmi, että hillojen, aromivalmisteiden, liköörin sekä muiden elintarvikkeiden valmistukseen käytettäessä ruusukvitteni raaka-aineena on hyvinkin mielenkiintoinen. Pekiinin lähteeksi ruusukvitteni on kuitenkin ainakin vielä tällä hetkellä liian kallis tuottaa. Tuotantokustannukset laskisivat huomattavasti, jos sopiva konepöimintateknikka löytyisi. Tähän pääseminen vaatisi paitsi laite- myös lajikekehitystä, sillä konepöiminnassa hedelmien helppo irtoavuus ja saavutettavuus on tärkeää.

### 3 AINEISTO JA MENETELMÄT

Japaninruusukvittenin mikrolisäyksen aloitusmenetelmiä tutkittiin Lepaan mikrolisäyslaboratoriossa syksyn 2010 ja kevään 2011 aikana. Tutkimuksen pohjana käytettiin mikrolisäyslaboratoriossa tehdyn aikaisemman koekulun tuloksia ja tietoja, syksyn 2010 aikana tehtyjä kehitystehtäviä sekä muita tutkimustuloksia. Aloitusmateriaalit kerättiin 1998 perustetulta, latvialaisista 'Cido' siementaimista koostuvalta viljelmältä Lepaalta (Liite 3). Aloituksia tehtiin kahdella eri kloonilla, joista käytettiin näiden lepotilaisia silmuja sekä hyödettyjä versoja. Ravintoalustoja tutkimuksessa oli kolme erilaista.

#### 3.1 Mikrolisäyksen aloitusmateriaalit

Ruusukvittenin mikrolisäysviljelmän aloitusmateriaalina käytettiin Lepaan puutarhatalouden koulutusohjelman, HOPUNU08A4-vuosikurssin opiskelijoiden, Hanna Rummukaisen ja Sari Oksasen sekä Anne Kokin ja Laura Helgrénin kehitystehtävissä parhaiksi valittuja yksilöitä. Valintaan vaikuttivat kokonaissato, hedelmien keskipaino, lukumäärä ja muoto, pilkkujen, jotka voivat kieliä taudista, esiintyminen sekä pensaiden muut ominaisuudet, kuten okaisuus (Liite 3). (Avomaan ravintokasvituotannon kehitystehtävä-kurssi 2010.) Molemmista kehitystehtävistä valittiin yksi kloonin varsinaiseen lisäykseen. Kloonit nimettiin kehitystehtävissä käytettyjen nimien mukaan E9:ksi ja C22:ksi. Lisäysmateriaalia kerättiin viisi kertaa ajalla 10.11. – 29.11.2010.

Viljelmien aloitusmateriaaliksi valittiin oksia, joissa silmut näyttivät olevan elossa ja oksat muutenkin mahdollisimman hyvinvoivan näköisiä (Liite 3). Kaksi viimeistä hakukertaa (28.11. ja 29.11.) tehtiin kovan pakkasjakson jälkeen. Yhdellä hakukerralla (22.11.) oksia kerättiin molemmista klooneista vain hyödettaväksi ja niille annettiin kukkavirkistettä (Bell-Fleur, valmistaja Hortipack Holland BV). Muutkin kerätyt oksat jätettiin hyötymään huoneenlämpöön ikkunan eteen.

#### 3.2 Sterilointimenetelmät

Käytetty sterilointimenetelmä vaihteli viljelmän aloitusmateriaalin mukaan. Hyödettyistä silmuista puhjenneilla versoilla käsittelyt olivat hiukan kevyemmät kuin lepotilaisilla silmuilla. Erot streilointien välillä olivat natriumhypokloriittikäsittelyn (NaOCl) pitoisuudessa ja kestossa, sekä saippualliuoskäsittelyn (Erisept) vaikutusajassa. Valittujen sterilointimenetelmien osoittaututtua tarpeeksi tehokkaiksi, ei varalle suunniteltuja spakäsittelyjä tarvittu.



### 3.2.1 Lepotilaiset silmut

Lepotilasista silmuista tehtiin kaksi aloitusta kummallakin kloonilla (E9 ja C22). Kaikissa silmualoituksissa käytettiin samaa sterilointimenetelmää. Aloitusmateriaalin sterilointi aloitettiin huuhtomalla oksat juoksevan ioninvaihtoveden alla samalla hammasharjalla hangaten. Pestyt oksat leikattiin sopiviksi paloiksi siten, että jokaiseen oksanpalaan jäi yksi silmu. Seuraavaksi oksanpaloissa kiinni olevat silmut pestiin saippualiuoskäsittelyllä (Erisept 3 tippaa/100 ml ioninvaihtovettä), jossa ne pyörivät magneettisekoittimessa 20 minuuttia. Tämän jälkeen oksanpalaset huuhdeltiin lävikössä ioninvaihtovedellä ja kaadettiin petrimaljaan.

Laminaarivirtauskaapissa silmut käsiteltiin alkoholissa (70 % Etax) yhden minuutin ajan, jonka jälkeen ne siirrettiin huuhdeltaviksi ioninvaihtoveteen. Seuraavaksi vuorossa oli natriumhypokloriitti-käsittely (NaOCl 2 %), jonka kesto oli 10 minuuttia. Käsittelyä tehostamaan laitettiin myös kolme tippaa pintajännitystä alentavaa Tween 20:tä. 29.11.2010, kloonin E9 aloituksesta Tween jäi pois. Sekoittaminen tapahtui magneettisekoittimella. NaOCl-käsittelyä seurasi neljä huuhtelua ioninvaihtovedessä. Silmuja pidettiin huuhteluvesissä siten, että jokainen huuhtelu oli edellistä pidempi (n. 1, 2, 5 ja 10 minuuttia). Huuhteluiden jälkeen silmut preparoitiin.

### 3.2.2 Hyödetystä silmuista puhjenneet ruohomaiset versot

Versoaloituksia tehtiin yhteensä neljä. Kloonista C22 saatiin vain yksi aloitus, koska oksiin ei hyötynyt enempää käyttökelpoisia versoja. Kaikissa versoaloituksissa käytettiin samaa sterilointimenetelmää.

Sterilointi aloitettiin leikkaamalla hyödetyt versot irti oksista ja huuhtelemalla niitä juoksevan ioninvaihtoveden alla samalla hammasharjalla varovasti pesten. Pesun jälkeen lehtiä leikattiin siten, että lehtilapaa jäi noin kaksi millimetriä ja versot puolitettiin käsittelyn helpottamiseksi. Seuraavaksi oli vuorossa saippualiuoskäsittely, kuten silmujakin steriloidaessa, mutta käsittelyn vaikutusaika oli puolet lyhyempi, 10 minuutti. Kun versot oli huuhdeltu ja laitettu petrimaljaan, siirryttiin laminaariin.

Laminaarityöskentely aloitettiin käsittelemällä versot alkoholissa (70 % Etax) yhden minuutin ajan, jonka jälkeen ne siirrettiin ioninvaihtoveteen huuhdeltaviksi. Natriumhypokloriitti-käsittelyn (NaOCl) kesto oli 15 minuuttia, ja pitoisuus 1 %, eli miedompaa kuin silmuja steriloidaessa. NaOCl-käsittelyä seurasi neljä huuhtelua ioninvaihtovedessä silmusteriloinnin tapaan, jonka jälkeen versot preparoitiin.

### 3.3 Silmujen ja versojen preparointi

Silmut ja versot preparoitiin ennen aloituslustoille laittoa. Preparointi tapahtui molemmissa tapauksissa laminaarivirtauskaapissa, steriilejä työvälineitä käyttäen. Silmuja preparoidaessa apuna käytettiin stereomikroskooppia. Versojen kohdalla se ei ollut tarpeellista.

Jokainen silmu preparoitiin erikseen omalla petrimaljalla. Maljaan kaadettiin ionivaihdettua vettä, jonka jälkeen oksan palassa kiinni olevaa silmua voitiin alkaa preparoida. Ensin poistettiin oksan kuori ja katkaistiin silmun yläpuolella oleva turha oksan pätkä pois, sekä leikattiin alaosaan kiilamainen imupinta. Silmu preparoitiin siten, ettei yhtään ruskettunutta silmusuomua jäänyt jäljelle. Valmis silmu asetettiin koeputkeen kasvualustalle.

Hyödetyistä silmuista puhjenneet versot preparoitiin puolikas kerrallaan petrimaljalla. Verson leikkauspinnan kohdalta leikattiin noin millimetrin pala pois, lehdistä jätettiin pieni pätkä ruotia jäljelle ja korvakkeet poistettiin kokonaan. Kärkisilmun lähellä olevia lehtiä jätettiin enemmän jäljelle silmun turvaamiseksi. Verso leikattiin aloituspalaksi siten, että jokaiseen palaan tuli yksi silmu. Valmiit aloituspalat siirrettiin toiselle petrimaljan puolikkaalle ja kaikkien ollessa valmiit, sieltä koeputkiin kasvualustoille.

Valmiit viljelmät vietiin Lepaan mikrolisäyslaboratorion kasvatushuoneeseen. Kasvatushuoneessa päivän pituus on 16 tuntia ja lämpötila 24 °C +/- 1 °C. Yölämpötila on alhaisempi, koska silloin valot eivät ole päällä, mutta tarkkoja lukemia ei ole tiedossa.

### 3.4 Aloitusalueet

Aloituksiin valittiin kolme eri alustaa, joita kokeiltiin kummallakin kloonilla ja kaikissa eri aloituksissa. Alustat olivat MS-alustoja, mutta kahdessa makroravinteet ja sokerit oli laskettu ¾:aan kokonaismäärästä (Liite 1). Myös alustoissa käytetyt hormonit ja niiden pitoisuudet vaihtelivat (Liite 2).

Yhdeksi aloitusalueeksi valittiin Lepaan mikrolisäyslaboratoriossa edellisessä ruusukvittenikokeilussa mukana ollut MS + BAP 0,5 mg. Tätä alustaa oli alun perin päädytty kokeilemaan Panavaksen (1994) tutkimuksen perusteella. Toiseksi alueeksi otettiin laboratorion ehdottama MS ¾ + ZEA 1,0 mg. Kolmas alusta, MS ¾ + BAP 1,0 mg, valittiin myös tutkimuksen perusteella (Kauppinen, Kviklys, Rumpunen, Stanys & Svensson 2003).

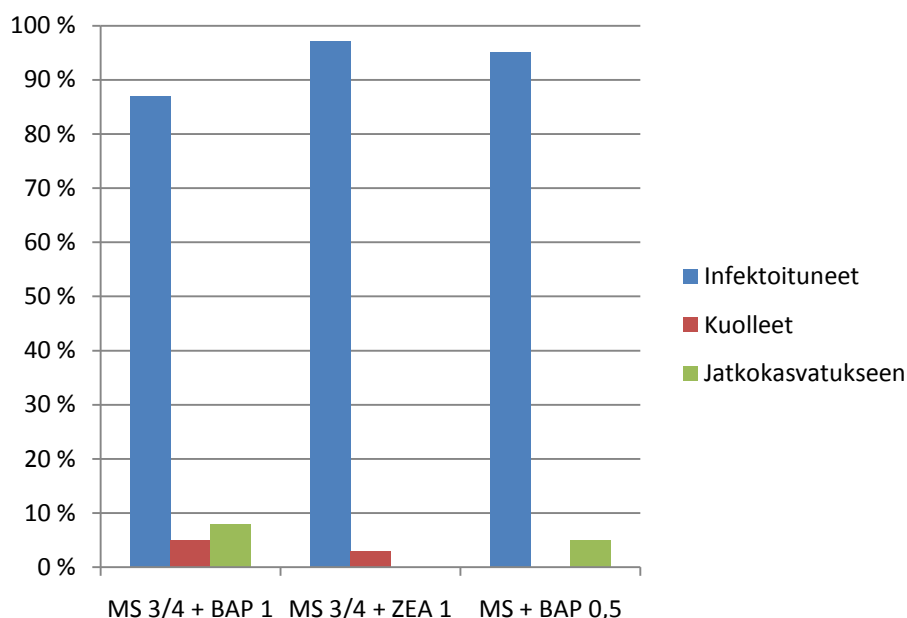
Tässä työssä ei testattu muita kuin MS-alustoja, vaikka aikaisemmissa tutkimuksissa ainakin monistusvaiheessa on saatu aikaan viljelmiä myös muunnellulla WPMR-alustalla. Sen ominaisuudet olivat kuitenkin MS-alustaan verrattuna heikommalla kasvun voimakkuuden ja elinvoimaisuuden, sekä monistumisen kannalta. (Kauppinen & Tigerstedt 1998.)

## 4 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

Viljelmiä tarkkailtiin silmämääräisesti noin viikon välein ajalla 22.11.2010-16.2.2011. Saaduista tuloksista ja havainnoista todettiin selviä eroja silmu- ja versoaloitusten välillä. Kloonien välillä voitiin nähdä jonkin verran eroavaisuuksia, mutta vähemmän kuin aikaisempien tutkimusten pohjalta olisi voinut odottaa. Eroja aloitusaloitusten välille saatiin, kun tarkasteltiin monistusaloitustalle siirrettyjen versojen määrää. Keräysajan kohdalla todettiin olevan merkitystä hyötymiseen.

### 4.1 Aloitusmateriaalin merkitys viljelmien kasvulle

Silmualoituksia tehtiin kaiken kaikkiaan 116 kappaletta, 58 kappaletta kumpaakin kloonia. Kasvuunlähtö oli hyvää, mutta lähes kaikki viljelmät (108 kappaletta) alustasta riippumatta infektoituivat (Kuva 7). Jotkut melko pitkänkin ajan kuluttua aloituksesta.



Kuva 7 Ruusukvittenin silmualoitusten tulokset prosentteina kokonaismäärästä jokaisella alustalla.

Osa silmualoituksista pysyi pitkään elossa. Niihin kasvoi kuitenkin paljon kallusta silmun tyvelle, jolloin kasvu pysähtyi tai oli hyvin kituliasta ja lehdet kellastuivat (Kuva 8). Sen vuoksi 12.1.2011 aloituksista poistettiin kallusta, tehtiin uudet imupinnat ja siirrettiin uusiin koeputkiin samoille alustoille kuin aikaisemmin. Kasvuun lähteneillä silmuilla kasvu oli pääsääntöisesti ruusukemaista (Kuva 9).



Kuva 8 Lähes kuollut ruusukvittenin silmualoitus. Yksi kasvanut lehti on putoamassa pois ja kallusta on paljon.

Kokeen loppuessa, 16.2.2011, silmualoituksiin merkittiin viisi aloitusta jatkokasvatukseen. Nämä aloitukset olivat vielä elossa, mutta niissä ei ollut tapahtunut verson pitenemistä. Niitä ei siirretty monistusalustalle, vaan jätettiin tarkkailuun.

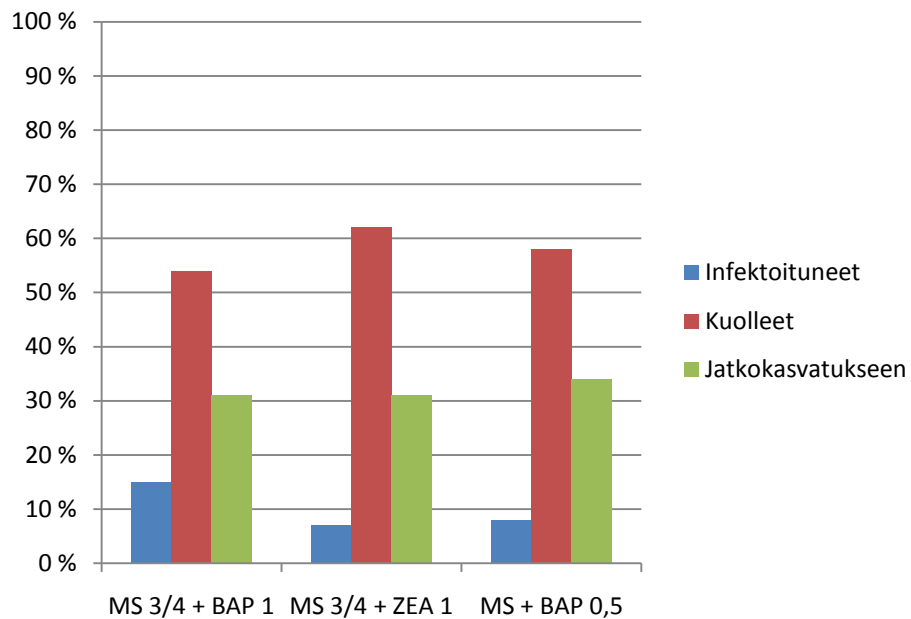


Kuva 9 Ruusekemaisesti kasvava ruusukvittenin silmualoitus.

Hyödetyistä versoista aloituksia kertyi yhteensä 38 kappaletta, 30 kappaletta kloonien E9 ja kahdeksan kappaletta kloonien C22. Versoaloituksia oli huomattavasti vähemmän kuin silmualoituksia ja tehdyt aloitukset jakautuivat epätasaisesti kloonien kesken. Tämä johtui siitä, että silmut hyötyivät hyvin vaihtelevasti ja osa hyötyneistäkin oli liian huonokuntoisia preparoitaviksi.

Yhdessä aloituksessa, 5.1.2011 kloonilla E9, käytetyt hyödettyt versot olivat heikkokuntoisia ja kärkisilmut kuivuneet. Tästä aloituksesta kaikki viljelmät infektoituivat tai kuolivat (Liite 2). Kaiken kaikkiaan versoaloitukset olivat kuitenkin huomattavasti silmualoituksia onnistuneempia (Kuva 10). Kokeen loppuessa, 16.2.2011, kaksi jatkokasvatukseen merkityistä

versoaloituksista siirrettiin samoille alustoille, uusiin koeputkiin siten, että niihin leikattiin uudet imupinnat ja poistettiin kallusta. Sen jälkeen ne jätettiin tarkkailuun. Toisessa viljelmässä version palassa oleva hankasilmu oli turvonnut, joten sen kasvuunlähtö oli mahdollista.



Kuva 10 Ruusukvittenin versoaloitusten tulokset prosentteina kokonaismäärästä jokaisella alustalla.

Monistusalustalle siirretyt pidentyneet versot lähtivät pääsääntöisesti kasvuun kärkisilmusta, mutta myös hankasilmujen pidentymistä tapahtui. Hankasilmujen kasvuunlähtöä esti luultavasti runsas kalluksen kasvu silmun kohdalle lähes kaikissa aloituksissa (Kuva 11). Infektoitumista tapahtui melko vähän. Useammin version pala kuoli tai se julistettiin kuolleeksi, koska kasvua ei tapahtunut pitkänkään ajan kuluessa.



Kuva 11 Tyypillinen ruusukvittenin hankasilmullinen versoaloitus, jossa runsasta kalluksen kasvua.

Kokeen aikana todettiin lepotilaisista silmuista tehdyissä aloituksissa selvästi enemmän ruusukemaista kasvua kuin hyödettyistä versonkärjistä tehdyissä aloituksissa. Silmuviiljelmit olivat myös infektoituneempia kuin versoista aloitetut viiljelmit. Kauppinen ym. (2003) esittivät tutkimukseensa samankaltaisia tuloksia kuin mitä tässäkin työssä saatiin.

Klooneja vertailtaessa erot olivat melko pienet mikrolisäyksen aloitusvaiheen onnistumisen kannalta (Taulukko 1). Kloonin E9 hienoinen paremmuus selittyi paljolti suuremmalla versoaloitusten määrällä ja niiden hyvällä onnistumisprosentilla silmualoituksiin verrattuna. Kloonin E9:n korkeampi kuolleisuuskin on selitettävissä yhtenä epäonnistuneena versoaloituksena (5.1.2011). Toisaalta kloonin C22 hyötyminen oli selkeästi heikompaa kuin E9:llä. Kauppinen ym. (2003) tutkimuksissa eri genotyyppien hyötymisen välillä havaittiin samankaltaista vaihtelua kuin tässäkin työssä voitiin nähdä. Heidän kokeessaan joistakin genotyypeistä ei saatu yhtäkään hyödettyä versoa lisäykseen.

Taulukko 1 Ruusukvittenikloonien E9 ja C22 silmu- ja versoaloitusten tulokset sekä molempien kloonien kaikkien aloitusten yhteenlasketut tulokset.

Klooni	Preparoituja	Infektoituneet	Kuolleet	Jatkokasvatukseen
E9 Silmut	58	54 (93 %)	1 (2 %)	3 (5 %)
E9 Versot	30	3 (10 %)	17 (57 %)	10 (33 %)
<b>E9 Kaikki</b>	<b>88</b>	<b>57 (65 %)</b>	<b>18 (20 %)</b>	<b>13 (15 %)</b>
C22 Silmut	58	54 (93 %)	2 (3 %)	2 (3 %)
C22 Versot	8	1 (12 %)	5 (63 %)	2 (25 %)
<b>C22 Kaikki</b>	<b>66</b>	<b>55 (83 %)</b>	<b>7 (11 %)</b>	<b>4 (6 %)</b>

Lisäysmateriaalin keräysajankohdalla näytti olevan vaikutusta ainakin silmujen hyötymiseen, sillä kaikki hyötynneet versot saatiin ennen pakkasjaksoa kerätyistä oksista. (Taulukko 2) Toisaalta erot ovat voineet johtua paljolti genotyyppien välisestä vaihtelusta ja hitaasta hyötymisestä. Leikkokukkavirkiste ei vaikuttanut hyötymiseen. On kuitenkin huomioitava, että virkistettä annettiin vain yhden keräyskerran (22.11.2010) oksille. Silmualoituksissa keräysajankohdalla ei ollut merkitystä kasvuunlähtöön, infektoitumiseen tai kuolemiseen.

Taulukko 2 Kaikkien ruusukvitteni aloitusten tulokset keräyspäivineen. Vain 28.- ja 29.11.2010 kerätyt oksat kerättiin pakkasjakson jälkeen. Niistä ei hyötynyt silmuja. Aloitukset on nimetty samoin kuin liitteessä 2.

Klooni	Keräyspvm.	Aloitukset	Infektoituneet	Kuolleet	Jatkokasvatukseen
E9	10.11.2010	Silmu I	32 (94 %)		2 (6 %)
C22	14.11.2010		33 (94 %)	1 (3 %)	1 (3 %)
E9	28.11.2010	Silmu II	22 (92 %)	1 (4 %)	1 (4 %)
C22	29.11.2010		21 (92 %)	1 (4 %)	1 (4 %)
E9	10.11.2010	Verso I	1 (17 %)		5 (83 %)
C22	14.11.2010	Verso II	1 (13 %)	5 (62 %)	2 (25 %)
E9	22.11.2010	Verso III	1 (11 %)	8 (89 %)	
E9	22.11.2010	Verso IV	1 (7 %)	9 (60 %)	5 (33 %)

## 4.2 Ravintoalustan merkitys viljelmien kasvulle

Alustojen väliset erot eivät olleet suuria, silmu- tai versoaloituksissa (Taulukko 3). Jatkokasvatus-lukujen mukaan katsottuna BAP:ia sisältäneet alustat olivat zeatiini-alustaa parempia. Tuloksia kuitenkin vääristää se, että jatkokasvatukseen laskettiin mukaan sekä monistusalustalle siirretyt versot että viljelmät, jotka olivat kokeen loputtua vielä elossa, mutta pitiuskasvua ei ollut tapahtunut.

Taulukko 3 Kaikkien ruusukvitteni aloitusten tulokset eri alustoilla.

Alusta	Preparoituja	Infektoituneet	Kuolleet	Jatkokasvatukseen
MS $\frac{3}{4}$ + BAP 1	51	35 (67 %)	9 (18 %)	7 (14 %)
MS $\frac{3}{4}$ + ZEA 1	52	39 (75 %)	9 (17 %)	4 (8 %)
MS + BAP 0,5	51	38 (75 %)	7 (14 %)	6 (12 %)

Suurinta ravintoalustasta johtuvaa vaihtelua voitiin nähdä lisättävien kasvien ulkoisissa eroissa. Tällaisia eroja olivat lehtien kellastuminen ja putoaminen silmualoituksissa, kasvuunlähdon heikkous tai verson kasvun erot (Kuva 12). Lehtien kellastumista esiintyi etenkin MS  $\frac{3}{4}$  + BAP 1 mg alustalla, sekä jonkin verran myös zeatiinia sisältäneellä alustalla. Todennäköisin syy kellastumiselle ja lehtien kuolemiselle oli yksinkertaisesti ravinteiden loppuminen alustasta. Tätä epäilystä vahvistaa viljelmien kunnon paraneminen uudelleen samoille alustoille siirtämisen jälkeen.



Kuva 12 Ruusukvitteni E9-kloonin pidentyneitä versoja 8.12.2010 tehdystä aloituksesta. Alustat vasemmalta oikealle: MS  $\frac{3}{4}$  + ZEA 1 mg, MS + BAP 0,5 mg (molemmissa kasvu hankasilmusta) ja MS  $\frac{3}{4}$  + BAP 1 mg (kasvu kärkisilmusta).

Lopputuloksen kannalta tärkeimmän tuloksen eli monistusalustalle siirrettyjen versojen määrän mukaan parhaaksi alustaksi nousi MS  $\frac{3}{4}$  + ZEA 1 mg (Taulukko 4). Alustan teki hyväksi myös nivelvälien venyminen pidentyneissä versoissa, mikä helpotti preparointia myöhemmissä lisäyksen vaiheissa. Nivelvälien pidentymistä ei kuitenkaan esiintynyt aivan johdonmukaisesti kaikissa alustan versoissa. MS  $\frac{3}{4}$  + BAP 1 mg -alustan



heikkous voisi johtua alustan melko korkeasta hormonipitoisuudesta. Esi-merkiksi Panavias (1994) totesi kokeessaan versojen pitenemisen olevan parasta 0,5 mg/l pitoisuudella, kun taas suuret pitoisuudet (yli 1 mg/l) estivät versojen kasvua. Toisaalta Kauppisen ym. (2003) mukaan paras lisäystulos saatiin juuri MS  $\frac{3}{4}$  + BAP 1 mg- alustalla.

Taulukko 4 Alustojen vertailu monistusalustalle siirrettyjen ruusukvitteniversojen lukumäärän mukaan.

Aloituspvm. & Kloonit	MS $\frac{3}{4}$ + BAP 1	MS $\frac{3}{4}$ + ZEA 1	MS + BAP 0,5
8.12.2010 E9	1	1	1
20.12.2010 C22		2	
12.1.2011 E9		1	1
<i>Yhteensä</i>	<i>1</i>	<i>4</i>	<i>2</i>

Kaikkia tämän kokeen alustoissa sakkaroosia oli 30 g/l eli perus MS-alustan ohjeen mukainen määrä (Liite 1). Aikaisemmissa tutkimuksissa parhaaksi sakkaroosimääräksi ruusukvittenin mikrolisäyksessä on kuitenkin osoittautunut 35 g/l (Kauppinen ym. 2003; Panavas 1994). Panavaksen (1994) mukaan tällä pitoisuudella versojen kasvu on voimakkainta ja myös viljelmien hyperhydraatio vähäisintä. Samassa tutkimuksessa todettiin myös korkeiden sytokiniinipitoisuuksien, 2 mg/l BAP, vaikuttavan ilmiön esiintymiseen viljelmissä. Hyperhydraatiota ei havaittu opinnäytetyön koe-osuuden aikana, eikä siitä Panavaksen (1994) ja Kauppisen ym. (2003) lisäksi muissa tutkimuksissa mainittu, joten kovin suurena ongelmaksi ei sitä ruusukvittenin mikrolisäyksen aloitusvaiheessa voida pitää.

#### 4.3 Jatkokasvatus

Vain pieni osa kaikista viljelmistä selvisi jatkokasvatukseen, eikä silmu-aloituksista yhtäkään siirretty monistusalustalle (Kuva 13). Versoaloituksista siirrettiin 12.1. ja 16.2.2011 monistusalustoille yhteensä seitsemän aloitusta, joista vain kaksi kloonit C22. Loput jatkokasvatukseen merkityistä viljelmistä jätettiin tarkkailuun, sillä ne olivat elossa, mutta pidentymistä ei ollut tapahtunut.



Kuva 13 Monistusalustalle siirrettyjä ruusukvittenin versonpaloja 12.1.2011.



Kokeen lopettamiseen, 16.2.2011, mennessä 12.1.2011 monistusalustoille siirretyt versot olivat kasvaneet ja ne oli preparoitu uudestaan. Toinen kloonin C22 monistusalustalle siirretyistä aloituksista (kaksi verson palaa) oli kuollut, mutta toinen oli edelleen hengissä ja monistunut (kolme kappaletta). Kloonin E9:n kaikki monistumaan siirretyt viljelmät (kolme purkkia, joissa jokaisessa kolme verson palaa) olivat elossa ja monistuneet 26 kappaleeseen.

Pidentyneet versot preparoitiin laminaarissa siten, että jokaisesta uudesta palasta tuli noin kaksi senttimetriä pitkiä, ylimääräiset lehdet poistettiin tai leikattiin pienemmiksi. Mitään erityistä sterilointia ei pidentyneille versoilte tehty. Preparoidut versonpalat siirrettiin Lepaan mikrolisäyslaboratoriossa puuvartisilla kasveilla yleisesti käytössä olevalle MS + BAP 0,2 mg-monistusalustalle.

## 5 LOPPUPÄÄTELMÄT

Tulosten perusteella voidaan todeta, että japaninruusukvittenin mikrolisäys kannattaa aloittaa hyödetyistä versoista lepotilaisten silmujen sijaan. Lepotilaisten silmujen käyttämistä vastaan puhuvat kokeen suuri infektoituneiden aloitusten määrä, sekä silmualoitusten taipumus kasvaa ruusukemaisesti pidentymisen sijaan. Myös kaikissa aikaisemmissa kokeissa viljelmät on aloitettu versoista, tai todettu silmuista aloittaminen kannattamattomaksi. (Kauppinen ym. 2003; Panavas 1994.)

Monistusalustalle siirrettyjen viljelmien lukumäärän mukaan parhaaksi aloitusaluksaksi nousi MS  $\frac{3}{4}$  + ZEA 1 mg. Tämä on uutta tietoa, sillä tätä työtä edeltäneissä tutkimuksissa hormonina on käytetty vain BAP:ia ja sen eri pitoisuuksia. Niissä parhaaksi pitoisuudeksi on osoittautunut 0,5-1,0 g/l, mikä on samoilla linjoilla tämän työn tulosten kanssa. (Kauppinen ym. 2003; Kauppinen & Tigerstedt 1998; Panavas 1994.) Jatkoon kannalta voisi olla järkevää testata eri zeatiini-pitoisuuksien vaikutusta kasvuun, sillä aikaisempia tutkimuksia aiheesta ei opinnäytetyötä tehdessä löytynyt.

Jatkossa kasvatusalustaa kehitettäessä myös eri sakkaroosipitoisuuksien kokeileminen olisi kannattavaa. Panavaksen (1994) kokeessa parhaita tuloksia saatiin 35 g/l sakkaroosimäärällä, kun taas tässä opinnäytetyössä pitoisuus oli 30 g/l eli MS-alustan perusohjeen mukaisesti. Myös Kauppinenkin ym. (2003) kokeessa 35 g/l sakkaroosia sisältävät alustat todettiin käyttökelpoisimmiksi.

Tämän työn tarkoituksiin kuului perehtyä japaninruusukvittenin mikrolisäyksestä vain aloitusmenetelmiin, sekä kehittää niitä eteenpäin. Loogista jatkoa tälle työlle olisikin tehdä samankaltaista tutkimusta myös monistus- ja juurrutusvaiheista. Kokeessa käytetty monistusalusta, MS + BAP 0,2 mg, toimi hyvin ja aikaisempien tutkimusten tuloksia on ruusukvittenin monistus- ja juurrutusvaiheista saatavilla, joten aivan tyhjin käsin ei näiden aiheiden osalta olla, vaikka jatkotoimenpiteisiin ei heti ryhdyttäisiäkään.

Vähiten tietoa kokeen aikana saatiin kloonien välisistä eroista. Jos japaninruusukvittenin mikrolisäystä jatketaan, aihetta tulisi tutkia lisää ja laajemmin, esimerkiksi useammilla klooneilla, sillä muissa tutkimuksissa erojen on todettu vaikuttavan merkittävästikin mikrolisäyksen onnistuvuuteen (Kauppinen ym. 2003; Kauppinen & Tigerstedt 1998). Nyt genotyyppien eroavaisuuksien nähtiin vaikuttavan lähinnä vain hyötymiseen. Toisaalta tämäkin on tärkeä havainto, jos mietitään ympärivuotisen mikrolisäämisen aloittamista.

Lisäysmateriaalin keruuajankohdasta saatiin melko vähän tietoa, eikä sen vaikutuksesta viljelmien onnistumiseen saatu näyttöä. Kesällä kerättyjen versojen ja talvella hyödettyistä silmuista kasvaneiden versojen väliset erot mikrolisäyksen kannalta olisi syödyllistä selvittää. Kauppinen ym. (2003) kokeessa parhaaksi lisäyslähteeksi osoittautuivat juuri aikuisista, kasvussa olevista kasveista, kerätyt versot.

Mielestäni tästä työstä saadut tulokset ovat tärkeä lisä tietoihin, joiden avulla voidaan jo lähitulevaisuudessa saada tuotettua nopeasti ja tehokkaasti markkinoille suomalaisia ruusukvittenilajikkeita, niin viljelyyn kuin koristekasviksikin. Ruusukvittenin tunnettuutta olisi lisättävä, niin kuluttajien kuin viljeliöiden ja viherrakentajienkin keskuudessa. Lisäksi olisi selvitettävä yritysten halukkuutta hedelmien prosessointiin. Yritysten kiinnostuksen takaamiseksi olisi tärkeää selvittää suomalaisten kuluttajien suhtautuminen japaninruusukvitteniin koristekasvina sekä elintarvikkeiden raaka-aineena.

## LÄHTEET

- Alanko, P. 1997. Puut ja pensaat. Porvoo: WSOY.
- Alanko, P. 2003. Koristepuut- ja pensaat. Kotipihan suosituimmat puuvar-  
tiset kasvit. Hämeenlinna: Tammi.
- Alanko, P., Hämet-Ahti, L., Palmén, A. & Tigersted, P. M. A. 1992. Suo-  
men puu- ja pensaskasvio. 2. uudistettu painos. Helsinki: Dendrologian  
seura.
- Alanko, P. & Saario, M. 1997. Pihan ja puutarhan marjat. Sulkava: Tam-  
mi.
- Antonius, K. 2006. Ruusukvitteni - *Chaenomeles* Lindley. Teoksessa  
Suomen kansallisten kasvigeenivarojen pitkäaikaissäilytysohjeet. Hedel-  
mä- ja Marjakasvit. MTT, 16-20. Viitattu 3.12.2010.  
<http://www.mtt.fi/met/pdf/met89.pdf>
- Arola, K. 2010. Yleiskuva Lepaan ruusukvitteniviljelmästä toukokuussa  
2010.
- Arola, K. 2011a. Verso jossa on lepotilaisia silmuja.
- Arola, K. 2011b. Okainen verso.
- Avomaan ravintokasvituotannon kehitystehtävä-kurssi. HAMK Lepaa.  
Puutarhatalouden koulutusohjelma. 2010.
- Bratish, I. Garkava, L. Gustafsson, M. Gröön, I. Hellin, P. Jordan, M.J.  
Kaufman, E. Kauppinen, S. Kviklys, D. Laaencina, J. Norin, I. Nybom,  
H. Ross, J.M. Ruisa, S. Rumpunen, K. Stanys, V. Thibault, J.-F. Thomas,  
M. Tigerstedt, P.M.A. Trajkovski, V. & Åkesson, B. 2000. Domestication  
of Japanese quince (*Chaenomeles japonica*). Teoksessa Geibel, M., Fisch-  
er, C. & Fischer, M. (toim.) Proceedings of the Eucarpia symposium on  
fruit breeding and genetics. Gent-Oostakker: ISHS, 345–348.
- Gröön, I. Gustafsson, M. Göransson, E. Hellin, P. Jordan, M. J. Laencina,  
J. Ros, J.M. Vila, R. & Åkesson, B. 2003. Processing and products of Jap-  
anese quince (*Chaenomeles japonica*) fruits. Teoksessa Rumpunen, K.  
(toim.) Japanese quince - Potential fruit crop for Northern Europe. De-  
partment of Crop Science. Swedish University of Agricultural Sciences,  
169–175. Viitattu 31.3.2011.  
<http://pub-epsilon.slu.se:8080/2201/01/14Processing.pdf>
- Göransson, E. & Rumpunen, K. 2003. Consumer preferences for Japanese  
quince (*Chaenomeles japonica*) products. Teoksessa Rumpunen, K.  
(toim.) Japanese quince - Potential fruit crop for Northern Europe. De-  
partment of Crop Science. Swedish University of Agricultural Sciences,  
177–179. Viitattu 31.3.2011.

<http://pub-epsilon.slu.se:8080/2202/01/15Consumers.pdf>

Hayden, W. 2008. *Chaenomeles japonica* 'Minerva'. Viitattu 17.4.2011.  
[https://facultystaff.richmond.edu/~jhayden/landscape\\_plants/early\\_spring\\_woody\\_plants/chaenomeles\\_japonica\\_%27minerva%27\\_LGBG\\_02s.JPG](https://facultystaff.richmond.edu/~jhayden/landscape_plants/early_spring_woody_plants/chaenomeles_japonica_%27minerva%27_LGBG_02s.JPG)

Jensen, K. 2006. Ekologisk odling av rosenkvitten. Viitattu 7.4.2011.  
[http://chaos.bibul.slu.se/sll/1st\\_o\\_lan/utan\\_serietitel\\_1st\\_o\\_lan/UST06-34/UST06-34.PDF](http://chaos.bibul.slu.se/sll/1st_o_lan/utan_serietitel_1st_o_lan/UST06-34/UST06-34.PDF)

Joy, P. & Martola, S. 1990. Ruusukvitteni. Teoksessa Tiilimäki, A. & Elo, U. (toim.) Marjat ja Hedelmät. Espoo: Weilin + Göös, 52–56.

Kauppinen, S., Kviklys, D., Rumpunen, K., Stanys, V. & Svensson, M. 2003. Propagation of Japanese quince (*Chaenomeles japonica*) plants. Teoksessa Rumpunen, K. (toim.) Japanese quince - Potential fruit crop for Northern Europe. Department of Crop Science. Swedish University of Agricultural Sciences, 81–92. Viitattu 3.12.2010.  
<http://pub-epsilon.slu.se:8080/2194/01/7Propagation.pdf>

Kauppinen, S. & Tigerstedt, P. M. A. 1998. Micropropagation of Japanese quince (*Chaenomeles japonica* Thunb.) as a part of EUCHA-project. Department of Plant Biology, Plant Breeding. University of Helsinki.

Kauppinen, S. & Weckman, A. 2002. Japaninruusukvittenistä uutta makua Suomen puutarhoihin. TEHO 2/2002, 18–19.

Kuvia tulipolte -taudin oireista. 2010. Evira. Viitattu 27.4.2011.  
[http://www.evira.fi/portal/fi/kasvit/viljely\\_ja\\_tuotanto/kasvitaudit\\_ja\\_tuholaiset/vaaralliset\\_kasvitaudit\\_ja\\_tuholaiset/usein\\_kysyttya/tulipolte/](http://www.evira.fi/portal/fi/kasvit/viljely_ja_tuotanto/kasvitaudit_ja_tuholaiset/vaaralliset_kasvitaudit_ja_tuholaiset/usein_kysyttya/tulipolte/)

van der Molen, M. n.d. *Nectria cinnabarina*. Viitattu 27.3.2011.  
<http://www.mycofiel.nl/detail/nectria%20cinnabarina.html>

Mosquin, D. 2007. Botany photo of the day. UBC Botanical garden. Viitattu 29.3.2011.  
[http://www.ubcbotanicalgarden.org/potd/2007/03/chaenomeles\\_japonica.php](http://www.ubcbotanicalgarden.org/potd/2007/03/chaenomeles_japonica.php)

Palmstierna, I. 1999. Puutarhan puut ja pensaat. Suom. Hannele Vainio. Helsinki: Otava.

Panavas, T. 1994. Optimization of the growth medium for the micropropagation of Japanese quince (*Chaenomeles japonica* Thunb.). Biologija 3, 44–49.

Rubauskis, E. & Ruisa, S. 2005. Evaluation of the selected genotypes of *Chaenomeles japonica*. Proceedings of the international scientific conference: Environmentally friendly fruit growing, 69–75.

Rumpunen, K. 2003. Profitability for cultivation of Japanese quince (*Chaenomeles japonica*). Teoksessa Rumpunen, K. (toim.) Japanese quince - Potential fruit crop for Northern Europe. Department of Crop Science. Swedish University of Agricultural Sciences, 181–184. Viitattu 18.4.2011. <http://pub-epsilon.slu.se:8080/2203/01/16Profitability.pdf>

Tulipolte. 2006. Kasvintuhoojasarja. Evira. Viitattu 28.3.2011. [http://www.evira.fi/attachments/kasvintuotanto\\_ja\\_rehut/kasvintarkastus/karanteenituhoojat/tulipolte.pdf](http://www.evira.fi/attachments/kasvintuotanto_ja_rehut/kasvintarkastus/karanteenituhoojat/tulipolte.pdf)

#### HAASTATTELUT

Virtanen, J. 2011. Liköörimestari. Lepaan viinitila. Haastattelu 18.4.2011.

## MS-ALUSTA

(Murashige &amp; Skoog 1962: Uosukainen 1997)

KANTALIUKOKSET			RAVINTOLIUKOS		
Nimike	Yhdiste	Pitoisuus	ml kant. / l	Pitoisuus	
				mg/l	mM
MS-pääravinteet (MS-makro)		g/l 10x	100		
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> ammoniumnitraatti (hapettava)	16,5		1650	20,6
	KNO <sub>3</sub> kaliumnitraatti (hapettava)	19,0		1900	18,8
	CaCl <sub>2</sub> x2H <sub>2</sub> O kalsiumkloridi (ärsyttävä)	4,4		440	3,0
	MgSO <sub>4</sub> x7H <sub>2</sub> O magnesiumsulfaatti	3,7		370	1,5
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> kaliumdivetyfosfaatti	1,7		170	1,25
	MS-hivenaineet (MS-mikro)			mg/100 ml 1000x	1
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> boorihappo	620		6,2	0,1
	MnSO <sub>4</sub> xH <sub>2</sub> O mangaanisulfaatti (haitallinen)	1690		16,9	0,1
	ZnSO <sub>4</sub> x7H <sub>2</sub> O sinkkisulfaatti (ärsyttävä)	860		8,6	0,03
	KI kaliumjodidi	83		0,83	0,005
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> x2H <sub>2</sub> O natriummolybdaatti	25		0,25	0,001
	Erilliset kantaliuokset mg/100 ml 10000x	*CuSO <sub>4</sub> x5H <sub>2</sub> O 25 mg kuparisulfaatti (haitallinen) *CoCl <sub>2</sub> x6H <sub>2</sub> O 25 mg kobolttikloridi (myrkyllinen)		10 ml  10 ml	
MS-Fe = WPM-F		mg/100 ml 200x	5		
	FeSO <sub>4</sub> x7H <sub>2</sub> O rauta(II)sulfaatti (ärsyttävä)	557		27,8	0,1
	Na <sub>2</sub> EDTA etyleenidiamiinitetraetikkahapon natriumsuola = Titriplex III (ärsyttävä) tai NaFe-EDTA, EDTA:n natrium-rauta(III)suola	745  734		37,3  36,7	0,1  0,1
	MS-vitamiinit			mg/250 ml 200x	5
Kantaliuos jaetaan 5 ml:n eriin, jotka säilytetään syväjäätäsä (n. -20 °C).	tiamiinidikloridi (B <sub>1</sub> -vitamiini)	5		0,1	0,0003
	nikotiinihappo (B-vitamiini) (ärsyttävä)	25		0,5	0,004
	pyridoksolihydrokloridi (B <sub>6</sub> -vitamiini)	25		0,5	0,002
	glysiini (aminohappo)	100		2,0	0,027
Myo-inositoli (sokerialkoholi)		1,0g /100 ml 100x	10	100 tai punnitaan erikseen	0,56
Sakkaroosi (ruokosokeri)				30000 punnitaan erikseen	87,6
pH		Tilavuus → n. 4/5 lopullisesta tilavuudesta			5,7
		Tilavuus → 1 litra mittapullossa			
Agar				8500 punnitaan erikseen, liuotetaan kuumentamalla lämpölevyllä + magneettisekoitus	
Bacto Peptone				270 mg	

## YHTEENVETO ALOITUKSISTA

Silmut		MS 3/4 + BAP 1			MS 3/4 + ZEA 1			MS + BAP 0,5		
		E9	C22	Yht.	E9	C22	Yht.	E9	C22	Yht.
I 11.- 12.11.2010 (E9) & 15.- 16.11.2010 (C22)	Infektoituneet	9	10	19	11	12	23	12	11	23
	Kuolleet		1	1						
	Jatkokasvatukseen	2		2					1	1
II 29.11.2010 (E9) & 30.11.2010 (C22)	Infektoituneet	7	7	14	8	7	15	7	7	14
	Kuolleet	1		1		1	1			
	Jatkokasvatukseen		1	1				1		1
		19	19	38	19	20	39	20	19	39

Versot		MS 3/4 + BAP 1			MS 3/4 + ZEA 1			MS + BAP 0,5		
		E9	C22	Yht.	E9	C22	Yht.	E9	C22	Yht.
I 8.12.2010	Infektoituneet				1		1			
	Kuolleet									
	Jatkokasvatukseen	2		2	1		1	2		2
II 20.12.2010	Infektoituneet		1	1						
	Kuolleet		2	2		1	1		2	2
	Jatkokasvatukseen					2	2			
III 5.1.2011	Infektoituneet	1		1						
	Kuolleet	2		2	3		3	3		3
	Jatkokasvatukseen									
IV 12.1.2011	Infektoituneet							1		1
	Kuolleet	3		3	4		4	2		2
	Jatkokasvatukseen	2		2	1		1	2		2
		10	3	13	10	3	13	10	2	12

Kaikki		MS 3/4 + BAP 1			MS 3/4 + ZEA 1			MS + BAP 0,5		
		E9	C22	Yht.	E9	C22	Yht.	E9	C22	Yht.
Infektoituneet		17	18	35	20	19	39	20	18	38
Kuolleet		6	3	9	7	2	9	5	2	7
Jatkokasvatukseen		6	1	7	2	2	4	5	1	6
		29	22	51	29	23	52	30	21	51



## KUVIA RUUSUKVITTENISTÄ



Kuva 1 Yleiskuva Lepaan ruusukvitteniviljelmältä toukokuussa 2010. (Arola 2010.)



Kuva 2 Yleiskuva Lepaan ruusukvitteniviljelmältä huhtikuussa 2011.



Kuva 3 Japaninruusukvittenin verso, jossa on lepotilaisia silmuja (Arola 2011a).



Kuva 4 Okainen ruusukvitteniverso (Arola 2011b).





Kuva 5 Vasemmalla ruusukvitteniklooni C22 ja oikealla ruusukvitteniklooni E9 huh-  
tikuussa 2011.



Kuva 6 Lepaan viinitilan ruusukvittenilikööri Lepaan ruusuinen.